

## 국산 제 2세대 혈소판 보존백을 이용한 5일 보존 혈소판농축액의 평가

경북대학교 의과대학 임상병리학교실, 계명대학교 의과대학 임상병리학교실\*, 대구·경북 적십자혈액원\*\*  
최현식 · 장순희 · 이난영 · 서장수 · 이원길 · 김재식 · 전동석\* · 김종규\*\* · 송달효\*\*

### = Abstract =

### Evaluation of Platelet Concentrates Stored for Five Days in Domestic Second Generation Platelet Storage Containers

Hyun Sik Choi, M.D., Soon Hee Jang, M.D., Nan Young Lee, M.D., Jang Soo Suh, M.D.,  
Won Kil Lee, M.D., Jay Sik Kim, M.D., Dong Seok Jeon\*, M.D.,  
Jong Gyu Kim\*\*, M.D. and Dal Hyo Song\*\*, M.D.

Department of Clinical Pathology, College of Medicine, Kyungpook National University:

Department of Clinical Pathology, College of Medicine, Keimyung University\*:

Red Cross Taegu and Kyungpook Blood Center\*\*, Taegu, Korea

**Background :** The most important things for the prolonged storage of platelet concentrates are whether it can be supplied with adequate O<sub>2</sub> and maintained at optimal pH condition, which is dependent on materials of platelet storage containers and various plasticizers. Polyvinylchloride (PVC) containers plasticized with tri-(2-ethylhexyl) trimellitate (TEHTM) and polyolefin containers which can be stored for 5 to 7 days are known as second-generation platelet storage containers. The authors evaluated a new domestic platelet storage container made of PVC plasticized with TEHTM.

**Methods :** 20 units of platelet concentrates were stored in PVC containers plasticized with TEHTM (BOIN MEDICA Corporation, Korea) which were mixing on flat-

〈접수 : 1996년 11월 8일〉

〈수정본 접수 : 1996년 12월 27일〉

\* 본 논문은 경북대학교병원 임상연구비 지원에 의한 것임.

\*\*교신저자 : 서 장 수

대구광역시 중구 삼덕 2가 50번지

경북대학병원 임상병리과(Tel : 053-420-5293, Fax : 053-426-3367)

## — 최현식 외 8인 : 5일 보존 국산 혈소판 보존액의 평가 —

bed platelet agitator for 7 days at room temperature. In vitro, platelet count, MPV, PDW, pH,  $pO_2$ ,  $pCO_2$ ,  $HCO_3^-$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$ , LDH, lactate, hypotonic shock response (HSR), extended shape change (ESC), platelet morphology change (PMC) and platelet aggregation test were evaluated at day 0, 2, 5, and day 7. Also, all platelet concentrates were cultured at day 0.

**Results :** There were no growth in all bacterial cultures. In contrast to day 0, mean platelet count, mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDW),  $pO_2$ ,  $pCO_2$ ,  $HCO_3^-$  and  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$  did not show significant unfavorable changes at day 5 and pH was well maintained at day 5 (7.33) and at day 7 (7.14). LDH and lactate increased proportionally to storage time. HSR and ESC were 60%, 57% at day 5 and 38%, 40% at day 7 and it was similar to that of platelet aggregation test (at day 7: collagen 58%, ADP+collagen+epinephrine 54%) in contrast to day 0. Platelet morphology change (PMC) was well maintained as non-discoid platelet which was counted as 38% at day 5 and 54% at day 7.

**Conclusions :** In vitro platelet function of platelet storage container, pH was maintained above 7.0 for 7 days and HSR, ESC, PMC and platelet aggregation function were well maintained for 5 days. As a result of the study, the authors concluded that the use of 5-day stored CPDA-1 platelet container plasticized with TEHTM in Korea is recommendable for alleviating the difficulties in supply of platelet concentrates. (*Korean J Clin Pathol* 1997;17(1):173~82)

**Key Words :** PVC, TEHTM, In vitro platelet function, 5-day stored platelet container.

## 서 론

혈소판농축액의 장기간 보관은 응급한 경우나 공휴일 등 혈소판제제의 준비가 어려운 상황에서 이를 해결할 수 있는 방법중의 하나이다. 혈소판제제의 장기간 보관에서 가장 중요한 문제는 실온 보관시 혈소판의 왕성한 대사에 필요한 산소의 원활한 공급과 이산화탄소의 배출 및 산도의 적정유지로 이는 혈소판 보존액의 재질과 혈장대체 혈소판 보충액의 성상에 달려 있다[1-5].

혈소판 보존액은 1970년대 초, 혈소판농축액을 실온에 보관하기 시작하면서 폴리염화비닐 (polyvinylchloride: PVC)을 소재로 처음 사용되었으며 제품으로는 Fenwal사의 PL-130과 Cutter사의 CL-2399 등이 소개되었다[6]. 그러나 당시의 백은 산소투과도가 낮고 균일하지 않아 혈소판농축액을 실온에 3일 정도 보관할

경우 상당수 혈소판농축액의 pH가 6.0이하로 떨어져 혈소판 회수율과 반감기가 격감하는 단점이 있었다[6]. 이후 두 회사에서는 diethylhexyl phthalate (DE-HP)를 가소제로 사용하여 다소 백의 산소투과도를 높인 PL-146과 CL-3000을 개발하여 혈소판농축액을 최소 3일까지는 큰 문제없이 보관할 수 있게 되었다 [7,8]. 1970년대 후반에 들어 골수이식술, 악성종양의 화학요법 및 방사선요법 등이 활발해 지면서 혈소판제제의 수요가 폭발적으로 늘어나 혈소판제제의 장기보존 필요성이 크게 대두되었다. 혈액백 제조회사의 경쟁적인 소재연구 개발에 힘입어 산소투과도를 크게 향상시킨 제 2세대 triethylhexyl trimellitate (TEHTM) 처리 PVC제품들과 polyolefin제품들이 소개되었는데, 대표적인 보존액으로 Fenwal사의 PL-732 (polyolefin제품), PL-1240 (TEHTM처리 PVC제품), Cutter사의 CLX (TEHTM처리 제품)백 등이 있으며

## — 최현식 외 8인 : 5일 보존 국산 혈소판 보존액의 평가 —

오늘날 전세계적으로 사용되어지고 있다. 이들 제 2세대 보존액은 혈소판농축액을 5일에서 7일까지 보관할 수 있는 것으로 알려져 있어 혈소판의 보관과 혈소판제제의 공급에 원활성을 보태주었다[1,9,10]. 국내에서는 1991년에 녹십자의료공업(주)에서 DEHP를 가소제로 처리한 박층 PVC백을 개발하여 혈소판농축액의 5일 보존액으로 사용되어 왔으나 엄밀한 의미의 제 2세대 보존액은 아니었다[11]. 그러나 최근 국내에서도 PVC에 TEHTM을 가소제로 처리한 제 2세대 혈소판 보존액이 개발되어 국산백에 의한 혈소판 장기보존의 가능성을 높여주고 있는데 아직 이들 백을 이용한 혈소판농축액의 장기보존에 따른 평가는 되어 있지 않는 실정이다. 따라서 본 연구는 국내에서 최근 개발된 TEHTM처리 혈소판 보존액의 혈소판농축액 5일 보존에 따른 혈소판의 여러 가지 생체외 성상을 조사하여 혈소판제제의 실질적인 장기보존 가능성을 알아보고자 실시하였다.

### 재료 및 방법

건강한 남녀 공혈자 20명으로부터 항응고제 CP-DA-1이 들은 보인메디카(주)의 채혈백에 320ml씩 채혈하여 혈액원의 표준입무 지침에 따라 채혈후 8시간 이내에 혈소판농축액을 분리하였다. 분리된 혈소판농축액은 동일회사에서 개발한 PVC에 TEHTM을 가소제로 처리한 제 2세대 혈소판 보존액에 넣은 후 수평교반형 혈소판부란기 (Model 3606, Forma사 제품, 미국)에서 22°C 수평교반 (60회/분) 상태로 보관하였다. 20개의 혈소판농축액이 들은 보존액에서 채혈 당일, 2일 후, 5일 후 및 7일 후 등 4회에 걸쳐 검체를 채취하여 혈소판수, MPV, PDW, pH, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, LDH, lactate, hypotonic shock response (HSR), extended shape change (ESC), platelet morphology count (PMC), 혈소판 응집검사(ADP, epinephrine, collagen, ristocetin)를 하였고 세균배양검사는 채혈 당일 검체를 이용하여 5일 및 7일간 배양하여 세균오염 유무를 판별하였다. 혈소판수, MPV, PDW는 Technicon H-3 자동혈액분석기 (Bayer사 제품, 스위스)로 측정하였고 혈액가스 및 전해질은 Stat Profile 4 (Nova사 제품, 미국)로 37°C에서 측정하였으며, LDH는 LDH-HR kit (Wako사 제품, 일본)를 사용하여 Hitachi 7060 자동화학분석기로, lactate는

Lactate kit (Sigma사 제품, 미국)를 사용하여 수동처리한 후 분광광도계로 540 nm에서 측정하였다. 혈소판 응집검사는 동일 공혈자의 혈소판빈곤혈장으로 회색하여 혈소판수를 30만/mm<sup>3</sup>으로 조정한 혈소판풀부혈장 450μl에 혈소판 응집제 50μl를 첨가하여 PAP-4 혈소판 응집능 측정기 (BIO/™ A사 제품, 미국)로 측정하였다. 첨가한 혈소판 응집제 (BIO/DATA사 제품, 미국)의 농도는 ADP 0.1 mmol/L, epinephrine 0.2 mmol/L, collagen 2 mg/ml, ristocetin 15 mg/ml으로 각 응집제 별로 먼저 검사를 실시한 다음 ADP, epinephrine 및 collagen을 함께 혼합하여 사용한 혼합 응집제에 의한 응집능을 별도로 실시하였고 응집능의 정도는 tracing 5분에서의 응집값으로 결정하였다. HSR 값과 ESC값은 Lumi Aggregometer (Chrono-Log사 제품, 미국)를 이용하여 국제수혈학회 내의 BEST (Biomedical Excellence for Safer Transfusion) Working Party에서 제정한 표준검사법 [12]에 따라 HSR값은 물을 넣고 4분 후의 회복율(%)로 측정하였으며, ESC값은 1 mmol ADP를 투여한 직후의 peak값을 공식에 대입하여 산출하였다. 혈소판의 형태학적인 검사 또한 BEST 표준검사법 [12]에 따라 일부 채취한 혈소판농축액을 37°C에 30분간 방치한 후 위상차현미경을 이용하여 non-discoid 혈소판의 백분율로 구하였다.

TEHTM처리 혈소판 보존액의 혈소판농축액 5일 보존 가능성에 대한 객관적인 자료를 구하기 위하여 이미 5일 보존액으로 적십자혈액원에서 사용하고 있는 녹십자의료공업(주)의 DEHP처리 백에 5명의 건강한 공혈자로부터 분리한 혈소판농축액을 담아 동일한 방법으로 검사들을 시행하여 그 성적을 상호 비교하였다.

통계처리는 20개의 TEHTM처리 혈소판 보존액 및 5개의 DEHP처리 혈소판 보존액의 보관기간별 검사성적을 Excel Software (Microsoft사 제품, 미국)를 사용하여 검사별로 구분한 다음 보관기간별 평균값과 표준편차를 구하여 Student t test로 상호비교 분석하였고 p값이 0.05이하인 경우 유의한 것으로 판정하였다.

### 결 과

#### 1. 혈소판농축액의 단위당 혈소판수 및 세균배양 성적

20단위의 TEHTM처리 혈소판 보존액에 들은 평균

## — 최현식 외 8인 : 5일 보존 국산 혈소판 보존액의 평가 —

혈소판수는  $8.45 \times 10^5/\mu\text{l}$  였으며, 혈소판농축액의 용적 (평균 49.6 ml)을 이용하여 계산한 단위당 평균 혈소판 총수는  $4.02 \times 10^{10}$ 개 였다. 한편 5단위의 DEHP 처리 혈소판 보존액에 들은 단위당 평균 혈소판 총수는  $4.61 \times 10^{10}$ 개로 TEHTM처리 보존액에 비해 높게 나타났다(Table 1). 두가지 종류 보존액내의 혈소판농축액에 대한 세균배양 성적은 모두 음성으로 판명되었다.

### 2. 혈소판 보존기간별 혈소판수, MPV, PDW의 변화

TEHTM처리 혈소판 보존액에서의 보존기간에 따른 평균 혈소판수의 변화는 채혈 당일 ( $8.45 \times 10^5/\mu\text{l}$ )을 기준으로 5일 후 ( $8.2 \times 10^5/\mu\text{l}$ )까지 큰 변화가 없었으며, 7일 후 ( $7.1 \times 10^5/\mu\text{l}$ )에는 16% 정도 감소하였다. MPV는 채혈 당일 (6.89 fL) 증가된 후 2일 후 (6.12 fL)부터 정상화된 상태에서 7일(6.32 fL)까지 큰 변화를 보이지 않았다. PDW는 MPV와 달리 2일 후

(64.88%)까지는 계속 증가하다가 5일 후 (61.54%)에는 감소된 상태에서 7일 (61.07%)까지 별 변화없이 지속되었다. DEHP처리 보존액에서의 보존기간에 따른 변화 양상은 혈소판수에 있어서 5일 후까지 큰 변화를 보이지 않다가 7일 째 7.5% 정도의 감소를 나타내었고, MPV와 PDW는 5일 후까지 TEHTM처리 보존액과 유사한 변화를 보였으나, 7일 후에는 더욱 감소하는 양상을 보여주었다(Fig. 1).

### 3. 보존기간별 pH, $\text{pO}_2$ , $\text{pCO}_2$ , $\text{HCO}_3^-$ , LDH, lactate 및 전해질 농도의 변화

TEHTM처리 보존액에서의 pH 변화는 채혈 당일 (7.35)에 비해 2일 후에는 증가 (7.44)하였으며, 5일 후 (7.33) 및 7일 후(7.14)는 감소하는 경향을 보였다. 보존 5일 후까지 전체 예에서 pH 7.0 미만인 경우는 한 예도 없었으며, 7일 후는 4예에서 7.0 미만을 나타

Table 1. In vitro data (Mean $\pm$ SD) for platelet concentrates on day 0 of storage in TEHTM and DEHP plasticized PVC bags.

	PLT Count( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	PC Volume(mL)	Total PLT( $\times 10^{10}$ )
TEHTM-PVC Bag(n=20)	$845.4 \pm 264.4$	$49.6 \pm 7.6$	$4.02 \pm 0.73$
DEHP-PVC Bag (n=5)	$1134.2 \pm 376.6$	$41.4 \pm 2.7$	$4.61 \pm 1.26$

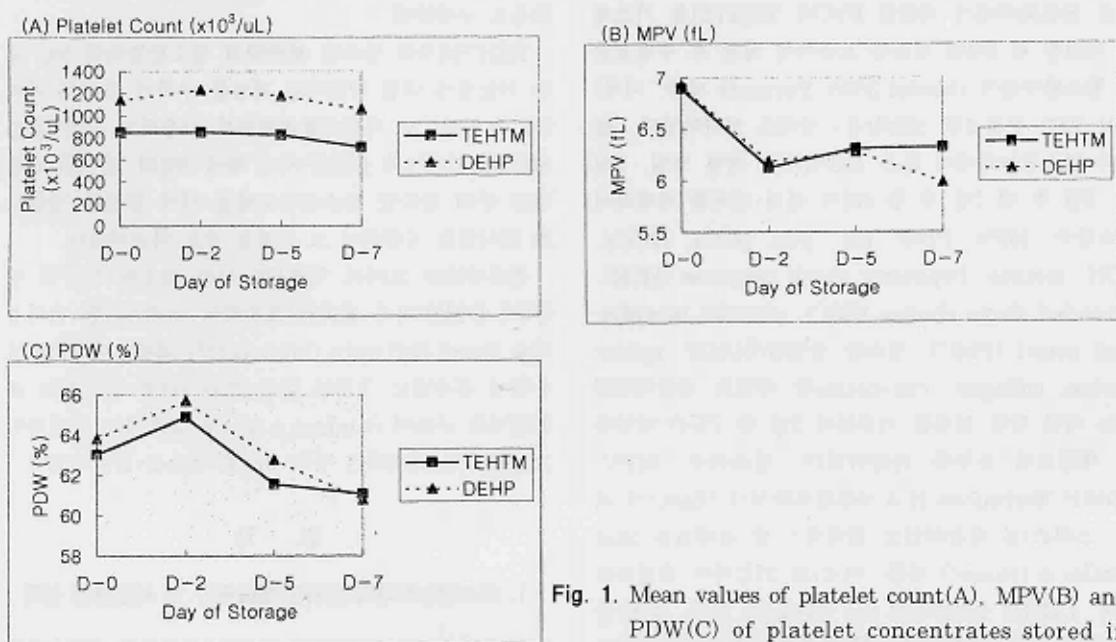


Fig. 1. Mean values of platelet count(A), MPV(B) and PDW(C) of platelet concentrates stored in TEHTM and DEHP plasticized PVC bags.

— 최현식 외 8인 : 5일 보존 국산 혈소판 보존액의 평가 —

내었다.  $pO_2$ 는 기준일 (121.4 mmHg)에 비하여 2일 후 (141.4 mmHg)는 증가하여 5일 후 (141 mmHg) 까지 큰 변화가 없다가 7일 후 (150.9 mmHg) 다시 증가하기 시작하였다. 그러나  $pCO_2$  및  $HCO_3^-$  농도는 보존기간에 따라 지속적으로 감소하는 양상을 보여주었다. DEHP처리 보존액에서의 변화는 pH에 있어서 보존기간이 장기화 될수록 떨어지는 폭이 높았으며,  $pO_2$ 는 2일 후 떨어진 상태에서 7일까지 큰 변화가 없었고,  $pCO_2$ 는 TEHTM처리 보존액의 변화와 동일하였다. 그러나  $HCO_3^-$  농도는 5일 이후 급격하게 감소함을 알 수 있었다. TEHTM처리 보존액에서의 LDH 변화는 보존 2일 후 (463 IU/L)까지 큰 변화를 보이지 않다가 이후 보존기간에 비례하여 증가하는 양상을 보여주었다. Lactate 농도의 변화 또한 LDH와 마찬가지로 보존 2일 후 (5.56 mmol/L)까지 큰 변화가 없다가 이후 보존기간에 비례하여 증가하는 양상을 나타내었다(Fig. 2). TEHTM처리 보존액에서의  $Na^+$ ,  $K^+$  및  $Cl^-$  등 주요 전해질들은 보존 5일 후까지는 큰 변화를 보이지 않다가 7일 후에 다소 떨어지는 양상을 나타내었다. 한편

DEHP처리 보존액의 전해질 농도 변화는 보존 2일 후 까지 큰 변화가 없다가 5일 후부터는 다소 변동 폭이 크게 증감하였다(그림 생략).

#### 4. 보존기간에 따른 혈소판 응집능, HSR, ESC 및 혈소판의 형태학적 변화

ADP와 epinephrine에 의한 응집유도는 채혈 당일부터 일부 검체에서만 나타나 분석을 실시하지 않았고, collagen, ristocetin 및 ADP, epinephrine, collagen을 혼합하여 투여한 후 나타난 응집능만을 보존기간별로 비교하였다. TEHTM처리 보존액에서의 collagen, ristocetin 및 응집제 혼합액에 대한 응집능은 보존 5일 후까지 채혈 당일 응집능의 50-75%가 남아 있었으며, 7일 후에도 collagen 및 혼합액에 대한 반응은 당일 응집능의 55% 정도 유지되었다. DEHP처리 보존액에서의 혈소판 응집능은 전체적으로 TEHTM처리 보존액에 비해 떨어지는 편이었고 특히 ristocetin에 대한 반응이 크게 떨어졌다. 그러나 채혈 당일에 대비한 응집능은 보존 5일까지 잘 유지하고 있었으며, 7일 후에는 급격하게 떨어지는 양상을 보여주었다. TEHTM 처리 보존액에서 HSR값의 변화는 보존기간에 따라 점

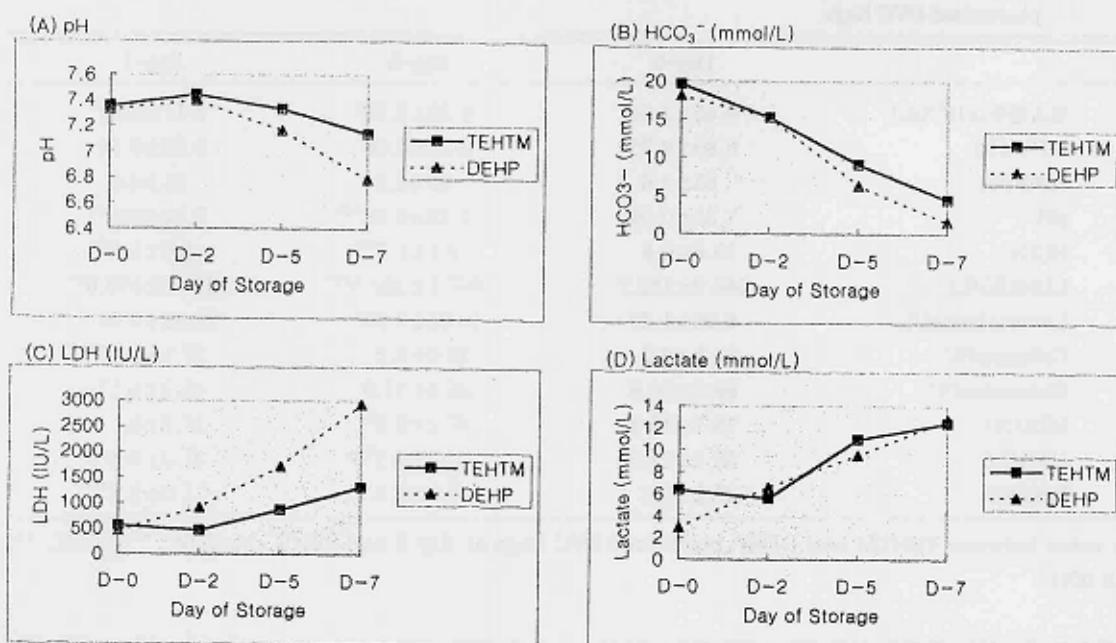


Fig. 2. Mean values of pH(A),  $HCO_3^-$ (B), LDH(C) and lactate(D) of platelet concentrates stored in TEHTM and DEHP plasticized PVC bags.

— 최현식 외 8인 : 5일 보존 국산 혈소판 보존액의 평가 —

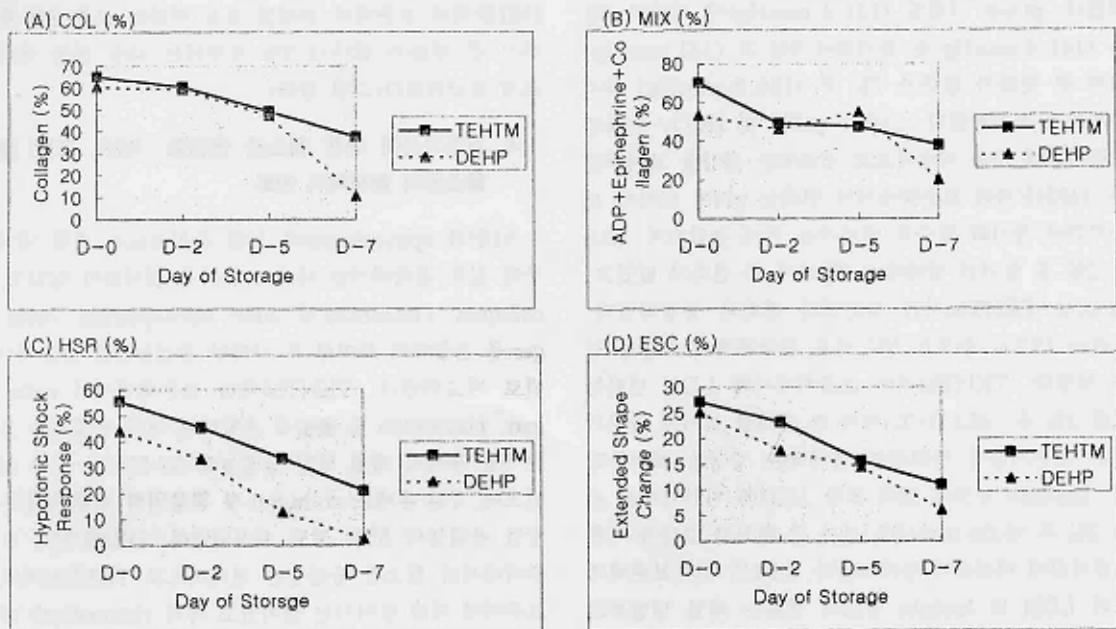


Fig. 3. Mean values of collagen(A), mix(ADP+epinephrine+collagen)(B), HSR(C) and ESC(D) of platelet<sup>1</sup> concentrates stored in TEHTM and DEHP plasticized PVC bags.

Table 2. In vitro data (Mean±SD) for platelet concentrates on day 0, 5 and 7 of storage in TEHTM plasticized PVC bags.

	Day-0	Day-5	Day-7
혈소판수(x10 <sup>5</sup> /uL)	8.45±2.64	8.20±2.58*	7.11±2.82*
MPV(fL)	6.89±0.75	6.31±0.60	6.32±0.58
PDW(%)	63±3.6	62±4.3	61±4.0
pH	7.35±0.04	7.33±0.08***	7.14±0.022**
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	19.6±0.8	9.1±1.7**	4.5±1.8**
LDH(IU/L)	546.2±182.7	867.1±292.5***	1315.0±879.6**
Lactate(mmol/L)	6.28±1.20	10.95±0.93*	12.42±0.53
Collagen(%)	64.9±9.5	49.0±8.1	37.5±13.7***
Ristocetin(%)	69.0±16.6	35.4±17.0	15.3±8.1*
MIX(%)	70.1±19.1	47.2±8.2**	37.7±8.1
HSR(%)	55.2±14.9	33.3±8.1***	21.0±6.4***
ESC(%)	27.2±2.2	15.6±2.3	11.0±2.3***

(p value between TEHTM and DEHP plasticized PVC bags at day 5 and day 7. \* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001)

차적으로 감소하는 경향을 보였지만, 채혈 당일 (55%)에 비하여 5일 후 (33%)는 60%, 7일 후 (21%)는 38% 정도의 회복율을 보여주었다. ESC값 또한 보존기

간에 따라 점차적으로 감소하였으나 변형능력은 채혈 당일 (27.2%)에 비하여 5일 후 (15.6%)는 57%, 7일 후 (11%)는 40% 정도 유지되고 있었다. 그러나

### — 최현식 외 8인 : 5일 보존 국산 혈소판 보존액의 평가 —

DEHP처리 보존액에서의 HSR값은 TEHTM처리 보존액에 비하여 5일 이상 장기 보존할수록 크게 떨어지는 편이었지만 ESC값은 보존 5일 후까지 TEHTM처리 보존액과 유사하게 나타났다(Fig. 3). Non-discoid 혈소판의 백분율로 나타낸 혈소판의 형태학적 변화도 TEHTM 보존액에서는 보존 5일째 평균 30% 미만을 보여 혈소판의 상태가 양호한 편으로 나타났지만 DEHP처리 보존액에서는 non-discoid 혈소판도 더 많이 나타나는 편이었다.

#### 5. TEHTM처리 보존액과 DEHP처리 보존액간의 비교

pH, LDH, collagen 및 혼합제의 응집검사, HSR, ESC 등의 검사에서 저장 5일 후 또는 7일 후에 TEHTM처리 보존액과 DEHP처리 보존액간의 유의한 차이( $p<0.05$ )를 보여주었다(Table 2).

#### 고 졸

혈소판 보존액의 혈소판농축액 저장 및 보존에 관한 연구는 1970년대 초, 폴리염화비닐을 소재로 한 보존액이 개발되면서 Fenwal사, Cutter사 등의 PVC처리 가소제 연구와 많은 학자들에 의한 혈소판의 생체외 기능실험 등을 통하여 본격화 되었다[1-4, 6-8]. 초기의 PVC만을 소재로 한 보존액은 산소와 이산화탄소의 백내 투과도가 낮아 당분해가 빨라지면서 pH가 떨어지게 되고 결과적으로 장기간 혈소판의 정상적인 기능을 유지시킬 수가 없었다. 이를 보완하기 위하여 Fenwal사는 PVC에 DEHP를 가소제로 첨가한 결과 종래의 보존액보다 산소투과도가 뛰어난 새로운 보존액(PL-146)을 개발하게 되었는데, 일반적인 제 1세대 혈소판 보존액은 바로 DEHP를 가소제로 처리한 PVC백을 의미하게 되었다[1, 9, 10]. 그러나 DEHP는 다른 지용성 가소제와는 달리 PVC 표면에 공유결합을 하지 못하는 관계로 시간이 지남에 따라 백내의 혈액성분 속으로 녹아들게 되고 결과적으로 백의 산소투과도가 떨어지는 약점을 지니고 있으면서, 인체에 대한 독성 여부는 아직 확인되지 않았지만 동물실험에서 동물세포에 대한 독성작용을 가지고 있고, 혈소판에 대해서는 응집능을 떨어뜨리면서 저장속반응의 회복율을 감소시키는 것으로 보고되고 있다[13-16]. 그렇지만 다른 한편으로 적혈구 막에 대한 안정화 작용이 뛰어나고 적혈구의 용혈

을 방지할 수 있어 초기 헌혈백으로서나 적혈구제제의 보관 등에는 아직도 많이 이용되고 있는 실정이다 [15, 16]. 1970년대 후반에서 1980년대 초에 들어와 혈소판제제의 장기보존을 위한 백들이 많이 개발되었는데, 대표적인 것이 PVC에 TEHTM을 가소제로 처리한 보존액(PL 1240, CLX)과 polyolefin을 소재로 한 보존액(PL 732)들 이었다. 현재 이들을 제 2세대 보존액으로 부르고 있으며, 산소투과도가 DEHP처리 보존액에 비하여 3배 이상 높은 것으로 되어 있어 혈소판제제의 5일 이상 장기보존에 적합한 것으로 보고되고 있다[1-3, 9, 10]. 그러나 두가지 종류 보존액 모두 적혈구에 대한 안정화 작용이 없어 적혈구제제의 보관에는 적당하지 않는 것으로 알려져 있다[16]. 최근에는 혈소판 기능에 대한 장애를 일으키지 않으면서 산소투과도가 뛰어나고 적혈구 막에 대한 안정화 효과가 높은 butyryl trihexyl citrate(BTHC)를 가소제로 처리한 보존액(PL 2209)이 개발되어 혈소판분반효법시의 혈소판 보존액 등으로 사용되고 있다[16, 17].

TEHTM처리 혈소판 보존액의 혈소판 장기보관에 대한 평가는 이미 국내외적으로 많이 이루어져 있다[1-4, 18]. 그러나 TEHTM의 처리 기술에 따라 보존액내 혈소판농축액의 생체외 기능이 달리 나타날 수 있기 때문에 새로이 개발된 보존액에 대한 평가작업은 반드시 이루어져야 할 것으로 사료된다. 한 예를 들어 산소투과도를 너무 높게만 한 경우 오히려 혈소판농축액의 pH가 높이 올라가 혈소판 기능이 급격하게 떨어지는 역작용도 있을수 있기 때문에 개발에 유의하여야 한다. 본 연구는 국내에서 처음 개발된 제 2세대 혈소판 보존액을 대상으로 하였기 때문에 국내 채혈환경을 감안하여 이미 국내에서 연구된 외국산 제 2세대 보존액[18]이나 국산 DEHP처리 보존액[11]의 성적을 바탕으로 비교 검토하였다. 또한 현재 국내 각 혈액원에서 사용하고 있는 DEHP처리 보존액에 담은 5단위의 혈소판농축액에 대하여 동일 실험을 실시함으로써 연구성적의 객관성을 유지하려고 노력하였다.

본 연구에서 혈소판수, MPV 및 PDW 등 혈소판지수의 변화 양상은 채혈 당일 두 차례의 원심, 분리과정 및 온도변화 등에서 초래될 수 있는 혈소판의 불안정에 의한 MPV의 증대 외에는 5일 보존기간 동안 특별한 것이 없었으며, MPV의 증대 현상도 보존 2일 후 검사에서 회복되었음을 알 수 있었다. 이러한 연구 결과는

### — 최현식 외 8인 : 5일 보존 국산 혈소판 보존액의 평가 —

동일한 TEHTM처리 보존액 (PL 1240)을 이용한 김 등[18]의 결과와도 일치하는 내용이다. 혈소판 수나 혈소판지수의 변화와 혈소판의 기능 변화 사이에 연관성이 있는지는 잘 알려져 있지 않지만 장기보존 하에서도 검사값의 변화폭이 급격하지 않는 것이 양호하게 보존되는 것으로 생각할 수 있다. 특히 혈소판지수의 경우는 DEHP처리 보존액의 성적과는 달리 보존 7일후까지도 큰 변화를 보이지 않아 상대적으로 혈소판농축액의 장기보존에 유리할 것으로 판단되었다.

혈소판농축액의 장기보존에서 pH의 변화는 혈소판 기능과 밀접한 관계가 있어 매우 중요한 평가요소로 간주되고 있다. 일반적으로 혈소판농축액의 pH가 떨어지는 원인은 혈소판 대사에 필요한 에너지인 ATP를 얻기 위한 당분해과정에서 생성되는 lactate의 축적 때문이다. 그러나 백내의 산소투과도가 좋은 경우 lactate 생산이 줄어들게 되고, 생성된 lactate는 중탄산이온과 결합하여 이산화탄소와 물로 바뀌어 백 외부로 빠져나가기 때문에 pH의 변화가 크지 않게 된다[19]. 본 연구에서 TEHTM처리 보존액내의 혈소판농축액 pH가 보존 5일 후까지 큰 변화없이 지속된 것은 보존액내의 산소투과도가 양호한 결과로 해석되며, pH 유지의 완충역할을 하는 중탄산이온 농도의 감소속도가 비교적 완만하게 유지되는 것도 같은 의미로 생각할 수 있다. 특히 보존 7일째에도 pH가 7.0 이상을 유지하였고 일부 검체에서 실시한 보존 11일째의 pH도 6.7 정도를 유지해 국산 TEHTM처리 보존액의 산소투과도는 매우 뛰어난 것으로 생각된다. 다만 평균 pH가 TEHTM처리 백을 이용한 외국의 연구 결과[16]에 비해 다소 높게 나온 것은 자동 혈액개스 측정기에서 pH 측정시의 온도가 본 연구에서는 37°C였기 때문으로 생각된다. 실제 같은 장비로 22°C에서 측정할 때와 비교하여 37°C에서 동일시료를 측정하였을 때 pH 7.4 정도에서 0.25정도 높게 나타났으며, 국내에서 김 등[18]이 TEHTM처리 보존액 (PL 1240)으로 연구한 결과에서도 pH가 비교적 높게 책정된 것으로 미루어 성적의 비교시 측정온도에 따른 편차를 반드시 고려하여야 할 것으로 본다.

TEHTM처리 보존액을 이용한 본 연구에서 혈소판농축액내의 전해질 변화 또한 보존 5일 후까지 큰 변화를 보이지 않는 것으로 미루어 장기보존에 따른 혈소판의 파괴 및 응집반응 등이 비교적 적은 것으로 보여진다. 그러나 DEHP처리 보존액에서 나트륨이온의 경우 5일

째부터 급격하게 증가하기 시작하였는데 이는 혈소판 파괴 또는 응집반응 등과 맞물려 MPV의 변화 및 LDH의 증가 등과도 유관할 것으로 생각된다.

LDH 및 lactate의 보존초기 변화는 TEHTM처리 보존액내의 적혈구 혼입 정도와 관련이 있을 것으로 사료된다. 실제 채혈당일의 LDH 및 lactate값이 보존 2일 후에 비해 다소 높게 나타난 것은 혈소판풍부혈장 분리 과정에서 일부 백에 다수의 적혈구가 혼입되었기 때문으로 생각되어 지는데, 앞서 언급한대로 혼입된 적혈구는 TEHTM이 세포막 안정화 효과가 없는 관계로 쉽게 용혈되어 LDH가 증가되었을 것으로 생각되며, 결과적으로 초기 산소분압이 낮고 이산화탄소분압이 높은 혈기성 상황에서에서 증가된 LDH에 의한 lactate 생성이 많아진 것으로 추정된다.

혈소판 응집능의 경우 응집제의 종류에 따라 반응정도가 달리 나타나는데, 일반 응집능검사에서 사용하는 응집제의 농도로는 ADP와 epinephrine의 경우 대부분의 혈소판농축액에서 응집반응이 미약하게 나타난다. 그러나 응집제의 농도를 높이거나 두가지 이상의 응집제를 동시에 사용하면 응집을 관찰할 수 있는데, Murphy 등[20,21]은 이러한 응집제 혼합액에서의 반응 성적이 혈소판의 생체내 응집기능과 관련이 있을 것으로 보고하였다. 본 연구에서도 ADP, epinephrine 및 collagen 등 3가지 응집제를 동시에 투여한 실험 성적을 보존기간에 따라 정리한 결과, 의미있는 내용을 관찰할 수 있었다. 즉 TEHTM처리 보존액의 경우 보존 7일째까지 완만한 감소를 보이면서 혈소판 응집능이 잘 유지된 반면, DEHP처리 보존액의 경우는 5일째까지 응집능이 잘 유지되다가 7일째는 급격하게 떨어짐을 알 수 있었다. 만약 이러한 복합 응집제에 대한 응집능이 생체내 응집능을 반영한다면 TEHTM처리 보존액의 경우 7일 보존 혈소판도 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

저장속반응은 혈소판을 물과 같은 저장용액에 노출시킨 후 용적이 회복되는 정도를 빛의 투과도를 이용하여 측정한 것으로 혈소판의 활동성을 반영한다[22]. BEST Working Party에서 HSR에 대한 표준검사법을 제시하면서 혈소판을 저장용액에 노출 시킨 후 4분 후의 회복값을 % HSR로 정하였다[12]. 보존 1일째 적정 % HSR은 50-90%, 그리고 보존 5일째 적정값을 40-80%로 잡고 있는데, 본 연구에서 평균 % HSR값이 다소 낮게 나온 것은 측정장비의 민감도 차이에서

### — 최현식 외 8인 : 5일 보존 국산 혈소판 보존액의 평가 —

오는 편차로 사료된다. 실제 BEST 위원회에서 사용된 전혈용 혈소판 응집반응기기의 민감도가 혈소판풍부혈장용 응집반응기기에 비해 일반적으로 높다고 알려져 있다[23]. ESC는 혈소판중 disc형태의 백분율을 수치화 한 것으로 통상 위상차현미경을 이용하여 관찰하는 혈소판의 형태학적 변화 검사를 대신할 수 있다. 이러한 ESC의 경우도 BEST위원회에서 제시한 표준검사법이 있으며, 보존 1일째 적정 ESC값은 20-30%, 그리고 5일째는 15-25% 정도로 잡고 있다[12]. 실제 혈소판의 형태학적인 변화를 위상차현미경으로 관찰하여 점수화 한 것과 유사한 성적을 얻을 수 있어 항후 현미경을 이용한 검사의 단점인 검사자의 주관성을 배제할 수 있는 좋은 방법으로 생각된다. 본 연구에서 TEHTM처리 보존액내 혈소판농축액의 ESC값과 위상차현미경을 통한 non-disc 혈소판의 백분율이 보존 5일 후까지 BEST 위원회의 적정 범위를 보여 혈소판의 기능뿐만 아니라 형태학적인 상태도 양호하게 장기보존되는 것으로 판단할 수 있었다.

### 요 약

**배경 :** 혈소판제제의 장기간 보관에서 가장 중요한 문제는 실온 보관시 혈소판의 왕성한 대사에 필요한 산소의 원활한 공급과 산도의 적정유지로 이는 혈소판 보존액의 제질과 가소제의 성상에 달려 있다. Tri-(2-ethylhexyl) trimellitate (TEHTM)를 가소제로 사용한 PVC 백은 폴리울레핀을 소재로 한 백과 함께 혈소판농축액을 5일에서 7일까지 보관할 수 있는 것으로 알려져 제 2세대 보존액으로 불리고 있다. 연구들은 최근 국내에서 개발된 TEHTM처리 혈소판 보존액에서 혈소판농축액의 장기보관 가능성을 평가하여 보았다.

**방법 :** 20명의 정상인에서 혈소판농축액을 분리하여 TEHTM처리 혈소판 보존액(보인메디카(주))에 넣은 다음, 22°C 수평교반 혈소판부관기에서 7일간 보관하였다. 혈소판의 생체의 기능검사는 분리 당일을 시작으로, 2일 후, 5일 후 및 7일 후 등 4회에 걸쳐 혈소판 수, MPV, PDW, pH, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, LDH, lactate, 저장속반응(HSR), Extended shape change(ESC), 혈소판의 형태학적 관찰 및 혈소판 응집능검사를 실시하였다. 또 분리당일에 세균배양검사를 실시하였다.

**결과 :** 혈소판농축액의 평균 혈소판수는  $4.02 \times 10^{10}$  개였으며, 세균배양검사 결과는 모두 음성이었다. 평균 혈소판수, MPV, PDW, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>은 저장 5일 후에 큰 변화를 보이지 않았고 pH는 5일 후에 7.33, 7일 후에 7.14로 잘 유지되었다. LDH와 lactate는 저장기간에 비례하여 지속적으로 증가하였다. HSR은 당일에 비해 5일 후 60%, 7일 후 38% 정도의 회복율을 나타내었으며, ESC도 당일에 비해 5일 후 57%, 7일 후 40% 정도의 반응을 보여주어 혈소판 응집능의 유지 (7일 후: collagen은 당일의 58%, collagen+ADP+epinephrine의 혼합시는 당일의 54%)와 유사성을 보여 주었다. 혈소판의 형태학적 변화는 non-disc 혈소판이 5일 후 28%, 7일 후 54%로 나타나 비교적 양호한 편이었다.

**결론 :** 국산 TEHTM처리 혈소판 보존액에서 혈소판농축액의 장기 보관시에 나타나는 혈소판의 생체외 기능변화는 pH가 7.0 이상을 유지하였고, HSR, ESC 및 혈소판 응집능 등이 5일 또는 7일까지 비교적 높게 유지되는 것으로 나타나 혈소판농축액을 5일 이상 장기 보관할 수 있는 것으로 평가되었다.

### 참 고 문 헌

1. Murphy S, Kahn RA, Holme S, Phillips GL, Sherwood W, Davisson W, Buchholz DH. Improved storage of platelets for transfusion in a new container. Blood 1982;60: 194-200.
2. Simon TL, Nelson EJ, Carmen R, Murphy S. Extension of platelet concentrate storage. Transfusion 1983;23:207-12.
3. Hogge DE, Thompson BW, Schiffer CA. Platelet storage for 7 days in second-generation blood bags. Transfusion 1986;26:131-5.
4. Lovric VA, Archer GT, Wisdom L, robson J, Raftos J, Coulitis N, Riberio A, Stewart M, Jindra J, Schuller M. Thirty-five-day modified red cells and 7-day stored platelet concentrates from triple bags of identical PVC formulation. Vox Sang 1986; 49:181-6.

— 최현식 외 8인 : 5일 보존 국산 혈소판 보존액의 평가 —

5. Koerner K, Sahlmen P, Zimmermann B, Cardoso M, Kubanek B. In vitro platelet function during storage in three different additive solutions. *Vox Sang* 1994;67:154-9.
6. Murphy S, Sayar SN, Gardher FH. Storage of platelet concentrates at 22°C. *Blood* 1970;35:549-57.
7. Lindberg JE, Slichter SJ, Murphy S, Schroeder DD, Nelson EJ, Champion AB, Carmen RA. In vitro function and in vivo viability of stored platelet concentrates. Effect of a secondary plasticizer component of PVC storage bags. *Transfusion* 1983; 23:294-9.
8. Solberg C, Holme S, Little C. Morphological changes associated with pH changes during storage of platelet concentrates in first-generation 3-day container. *Vox Sang* 1986;50:71-7.
9. Snyder EL, Pope C, Ferri PM, Smith EO, Walter SD, Ezekowitz MD. The effect of mode of agitation and type of plastic bag on storage characteristics and in vivo kinetics of platelet concentrates. *Transfusion* 1986;26:125-30.
10. Schiffer CA, Lee EJ, Ness PM, Reilly J. Clinical evaluation of platelet concentrates stored for one to five days. *Blood* 1986;67: 1591-4.
11. 김상인, 한규섭, 조한익, 오영철, 김기홍. 5일보존 혈소판농축액의 평가. *대한수혈학회지* 1991;2:29-36.
12. BEST Committee Members. Draft protocol for BEST study #7: Use of in vitro assays: Evaluation of platelet properties using the extent of shape change, and response to hypotonic stress (shock) assays. November 1994.
13. Ishikawa Y, Sasakawa S. Platelet storage in glow discharge-treated polyvinyl-chloride bags: Effect of a plasticizer on platelet hypotonic shock response. *Vox Sang* 1984;47:330-4.
14. Ishikawa Y, Honda K, Sasakawa S, Hatada K, Kobayashi H. Prevention of leakage of di-(2-ethylhexyl) phthalate from blood bags by glow discharge treatment and its effect on aggregability of stored platelets. *Vox Sang* 1983;45:68-76.
15. AuBuchon JP, Estep TN, Davey RJ. The effect of the plasticizer di-2-ethylhexyl phthalate on the survival of stored RBCs. *Blood* 1988;71:448-52.
16. Turner VS, Mitchell SG, Kang SK, Hawker RJ. A comparative study of platelets stored in polyvinyl chloride containers plasticised with butyryl trihexyl citrate or triethylhexyl trimellitate. *Vox Sang* 1995;69:195-200.
17. Simon TL, Sierra ER, Ferdinando B, Moore R. Collection of platelets with a new cell separator and their storage in a citrate-plasticized container. *Transfusion* 1991;31: 335-9.
18. 김상인, 한규섭, 조한익, 오영철, 김기홍. 5일보존 혈소판농축액의 평가. *대한수혈학회지* 1991;2:29-36.
19. Murphy S. Preparation and storage of platelet concentrates. In: Rossi EC, Simon TL, Moss GS eds. *Principles of Transfusion Medicine*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1991:205-13.
20. Murphy S, Gardner FH. Platelet storage at 22°C: role of gas transport across plastic containers in maintenance of viability. *Blood* 1975;46:209-18.
21. Murphy S. Platelet storage for transfusion. *Sem Hematol* 1985;22:165-77.
22. Jung G, Dieterlen A, Guerin E, Brunot A, Selva J, Schultz G. Size and shape change behaviour of platelets during storage in response to hypotonic shock. *Vox Sang* 1996;70:50-2.
23. Ingerman-Wojenski CM, Silver MJ. A quick method for screening platelet dysfunctions using the whole blood lumi-aggregometer. *Thromb Haemost* 1984;51:154-6.